



Otoantikörleri Ne Zaman İsteyelim? Nasıl Yorumlayalım?

Dr. Özlem Pehlivan

Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi Romatoloji

Giriş

- Tanının esası iyi bir anamnez ve sistemik muayenedir.
- Laboratuvar sadece destekleyici bilgiler verir.
- İstenecek testler bir rutin veya panel olmamalı, anamnez ve muayene sonucunda ortaya çıkan ayırıcı tanılara yönelik olmalıdır.

Romatizmal Hastalıklarda Laboratuvar Testlerinin Kullanılma Amaçları

Tanı

Otoantikörler

(RF, Anti-CCP, ANA, Anti-dsDNA, ANCA; AFA)

Yan Etki İzlemi

Hemogram

KCFT

İdrar tetkiki

Serum kreatinin

Kan lipidleri

Aktivite Tayini

ESH

CRP

Anti-dsDNA, ANCA

Kompleman (C3, C4)

Organ Tutulumu

Hemogram

Böbrek

İdrar tetkiki

serum kreatinin

Romatoid Faktör (RF)

- Romatoloji tarihinde ilk tespit edilen otoantikör
- IgG'nin Fc bölgesine karşı oluşmuş bir otoantikör
- Sinoviyal plazma hücrelerinde sentezlenir.
- RA için spesifik değildir. RA'da eklem dışı bulgular ve hastalık şiddeti RF pozitif grupta artmaktadır
- Rutinde ölçülen test IgM-RF, ancak her Ig tipinde olabilir.
 - Daha sensitif yöntemlerle, RA hastalarının %65'inde IgG, A veya E sınıfı RF saptanabilir.

Table 3 The 2010 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for RA

| | Score |
|--|--------------|
| Target population (Who should be tested?): Patients who | |
| 1) have at least 1 joint with definite clinical synovitis (swelling)* | |
| 2) with the synovitis not better explained by another disease† | |
| Classification criteria for RA (score-based algorithm: add score of categories A-D; a score of $\geq 6/10$ is needed for classification of a patient as having definite RA)‡ | |
| A. Joint involvement§ | |
| 1 large joint¶ | 0 |
| 2–10 large joints | 1 |
| 1–3 small joints (with or without involvement of large joints)** | 2 |
| 4–10 small joints (with or without involvement of large joints) | 3 |
| >10 joints (at least 1 small joint)†† | 5 |
| B. Serology (at least 1 test result is needed for classification)‡‡ | |
| Negative RF and negative ACPA | 0 |
| Low-positive RF or low-positive ACPA | 2 |
| High-positive RF or high-positive ACPA | 3 |
| C. Acute-phase reactants (at least 1 test result is needed for classification)§§ | |
| Normal CRP and normal ESR 0 | 0 |
| Abnormal CRP or normal ESR 1 | 1 |
| D. Duration of symptoms¶¶ | |
| < 6 weeks | 0 |
| ≥ 6 weeks | 1 |

RF Pozitifliği : Romatizmal Nedenler

| Hastalık | Pozitiflik Oranı |
|---------------------------|------------------|
| MBDH | %50 |
| Sjögren Sendromu | %60-80 |
| SLE | %15-35 |
| PM/DM | %5-10 |
| Mikst Kriyoglobulinemi | %40-100 |
| ANCA ilişkili Vaskülit | %50 |
| Skleroderma | %10 |

RF Pozitifliği: Diğer Nedenler

| Durum | Pozitiflik Oranı |
|-----------|------------------|
| >60 yaş | %5-25 |
| SBE | %25-50 |
| HBV | %20 |
| Tbc | %8 |
| Sarkoidoz | %3-30 |
| Silikozis | %50 |
| İPF | %10-50 |
| PBS | %45-70 |
| Malignite | %5-25 |

RF

- Non spesifik bir test
- Yaşlıda istenmesi yanlış tanı riskini arttırır!
- RF pozitif klinik yok ?
 - Sigara, Yaş
 - Hepatit ?
 - Akciğer
 - ANA

Kimlere isteyelim?

- Kronik poliartraljisi ve belirgin sabah tutukluğu olan
- Artritli
 - Poliartrit
 - Oligoartrit
 - Kronik monoartrit
- Tekralayan el tenosinoviti olanlar
- Sikka semptomları olan hastalarda
- RA'da prognostik değer anlama

RF: Klinik Önemi

- Erken dönemde hastaların $> \%50$ bulunmayabilir;
 - Çoğu 2 yıl içinde pozitif hale gelir.
 - Yaklaşık $\%20$ 'si seronegatif olarak kalır,
- En iyi kullanımı;
 - Klinik şüphe yüksekse (poliartrit, sabah tutukluğu vs) RA tanısının teyitidir.
- Klinik şüphe düşükse (örn, eklem inflamasyonu yoksa) RF testi yararlı değildir (yüksek yalancı + test).

RF: Klinik Önemi

- Hastalık aktivitesi ile korelasyon göstermez; tedaviye cevabı yansıtması sınırlı;
 - Tanı sonrası testin tekrarının ve titre takibinin yararı yoktur.
- Hastalığı önceden belirleyebilir (prediktif değer);
 - Tanıdan yıllar önce RF+ bireylerde daha sonra RA gelişebilir.
 - Asemptomatik RF varlığında RA riski 5-40 misli artabilir.
 - Özellikle yüksek seviyelerde RF varlığı, RA gelişimine öncülük edebilir.

RF: Klinik Önemi

- *Prognostik önemli olabilir (prognostik değer);*
 - Yüksek titrede RF; interstisyel AC hastalığı ve vaskülit gibi ekstraartiküler belirtilerle ve hastalığın daha ciddi formları ile güçlü bir korelasyon gösterir.
 - RF varlığı Rituksimab klinik anlamlı cevap olasılığını artırır.
 - Romatoid nodüller ve vaskülit çoğunlukla seropozitif hastalarda görülür; bu bulgular artmış mortalite ile birlikte.
 - İlk değerlendirmede, radyolojik progresyon RF pozitif hastalar arasında daha hızlı gelişebilir.

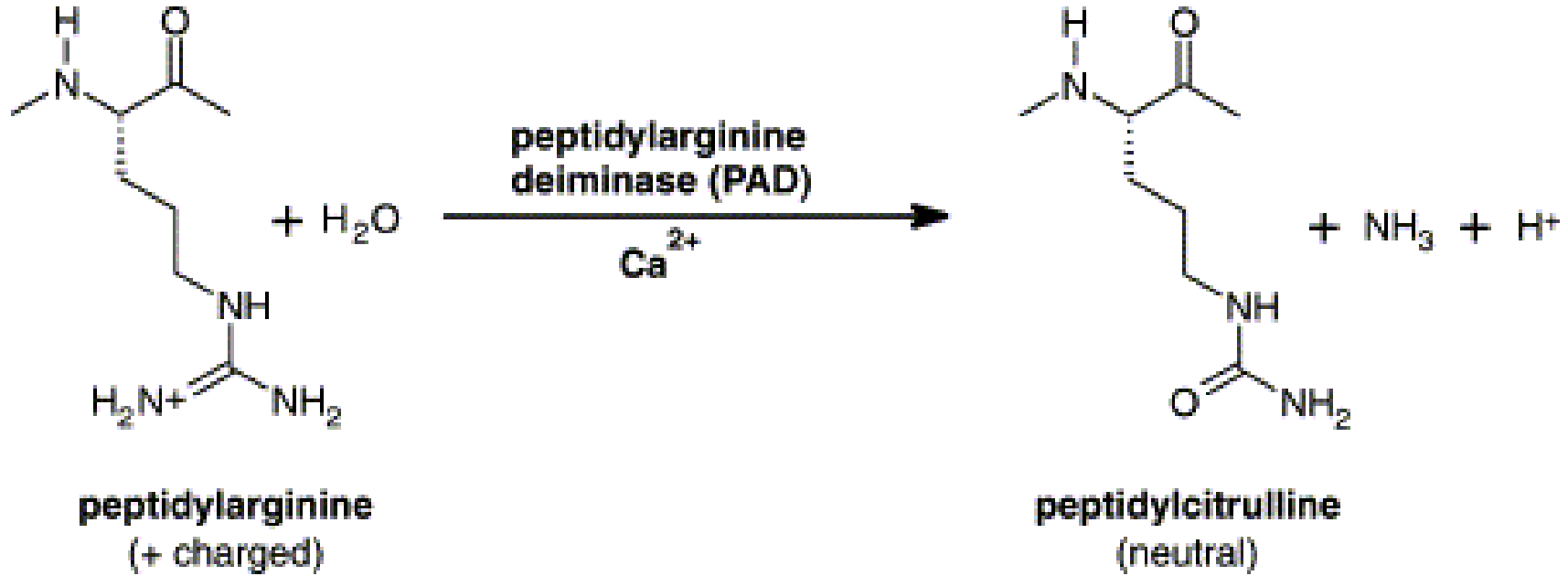
Kimlere istemeyelim?

- Artritsiz Plevral Effüzyon
- Artritsiz Perikardit
- Artritsiz İntertisyel Akciğer Hastalığı
- Artritsiz Mononörit
- Romatoid Artrit tanılı hasta takibi

ACPA (anti-CCP) (Anti-citrullinated peptide/protein antibodies)

- Citrulline “non-standard” bir amino asittir . Citrulline standart amino asit olan arjininin modifikasyonu ile oluşur, ve birçok proteinin (fibrinojen, filagrin, vimentin vb) citrulline içerdiği bilinmektedir.
- RA hastalarının büyük bir kısmı citrulline içeren proteinlere karşı antikor geliştirirler.
- Anti-CCP “Citrulline” içeren peptid/ proteinlere karşı gelişen oto-antikorlara verilen genel bir isimdir.
- Bu antikorlar başka isimlerle de anılırlar
 - APF (anti-perinuclear factor)
 - AKA (‘anti-keratin’ autoantibodies)
 - AFA (anti-filaggrin autoantibodies)

Sitrüline olmuş otoantijenler



PAD enzimi ile peptidilarginin'in sitrülasyonu (deimination).

Filagrin epitelial hücreler tarafından eksprese edilmesine rağmen, sinoviumda bulunmaz.

RF ve Anti-CCP Antikorların Sıklığı

| Hastalık | RF (%) | Anti-CCP (%) |
|------------------------|--------|--------------|
| Sağlıklı < 50 y | < 5 | 1 |
| Sağlıklı < 70 y | 10-50 | 1 |
| RA | 70-90 | 69 |
| SjS | 75-95 | 1 |
| SLE | 15-35 | 1 |
| Skleroderma | 20-30 | 3 |
| MBDH | 50-60 | - |
| PM/DM | 5-10 | 0 |
| ANCA ilişkili vaskülit | 5-60 | 1 |
| İnfeksiyonlar | 5-90 | 2 |

Diğer hastalıklarda Anti-CCP

- Protein deiminasyonu; hücre ölümü ve oksidatif stres esnasında görülür, bu 2 olayda romatoid sinovium içinde ve diğer bölgelerde görülebilir.
- Bu nedenle, Anti-CCP varlığı RA'ya patognomonik değildir.
- Çok yüksek titreler (>50 IU), güçlü bir şekilde RA'yı düşündürür.
- Düşük titreler ise diğer bazı hastalıklarda görülebilir;
 - Lyme hastalığı, multiple skleroz, JIA, SLE, Primer SjS, PsA, Tbc

Anti-CCP: Klinik önemi

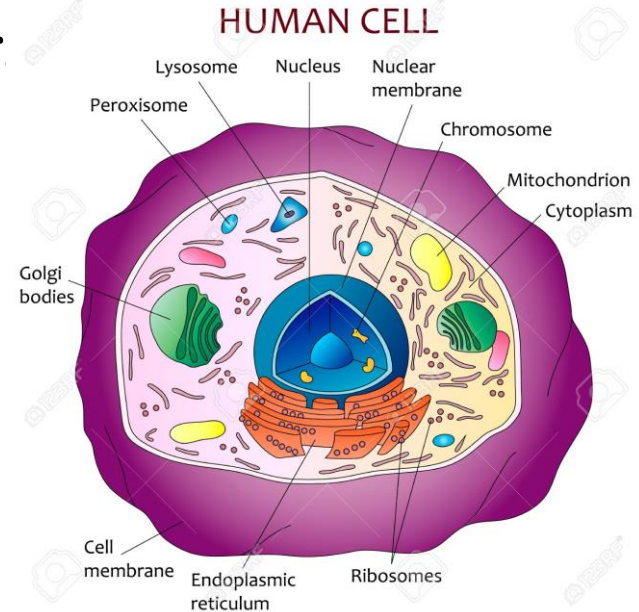
- *RA için oldukça spesifiktir;*
 - RA düşünülen, ancak tanısı kesinleşmeyen erken RA vakalarında bakılabilir.
- *Hastalıkta erken dönemde bulunur (prediktif değeri);*
 - Erken dönemde ve hatta semptomlar henüz ortaya çıkmadan önce saptanabilir ve RA gelişimine öncülük edebilir.
- *Eroziv hastalık gelişimini önceden gösterebilir (prognostik değeri);*
 - Eroziv hastalık ve radyolojik hasar ile korelasyon gösterir.

Anti Nükleer Antikor (ANA)



www.ANAPatterns.org

- Otoimmünite tarama testi
- Hücre nükleusunda bulunan nükleik asit ve nükleoproteinlere karşı oluşan otoantikorlar olarak tanımlanır.
- Çekirdek, sitoplazma ve membranlar kapsar.
- Antiselüler antikor (AC)
- 2017 ICAP uzlaşısı rapor ile ANA demeye devam



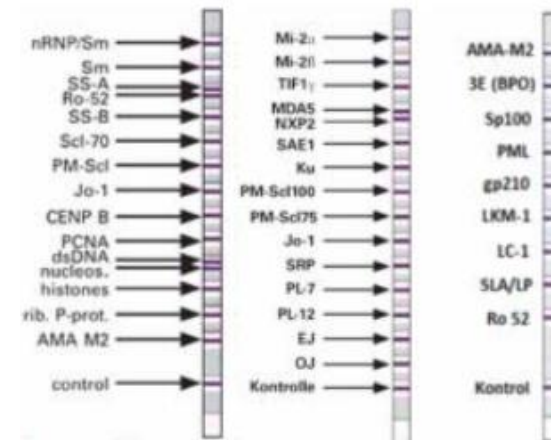
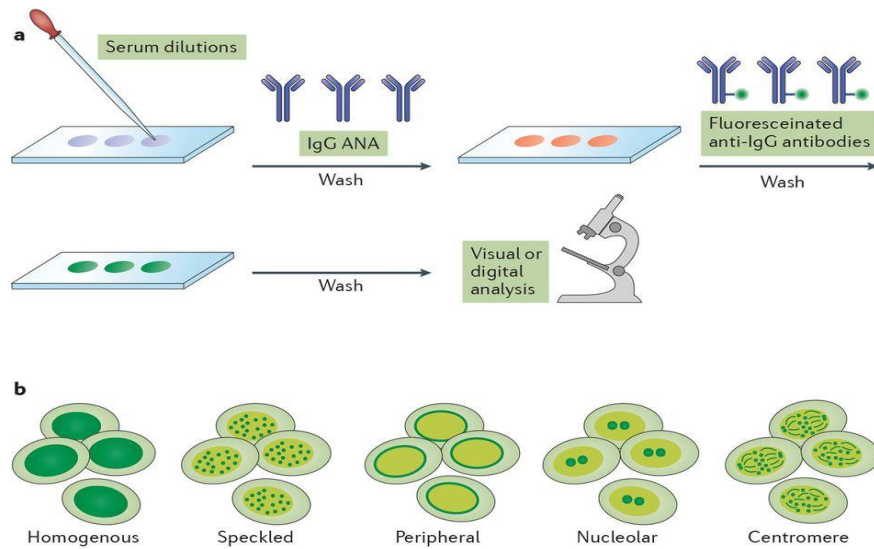
Test Yöntemleri

- İndirekt immunfloresan (gold standart, ACR)
- İmmunodifüzyon
- Hemaglutinasyon
- Komplement fiksasyon
- Solid-faz immunoassay (ELISA, immunoblot)
- Radioimmunoassay



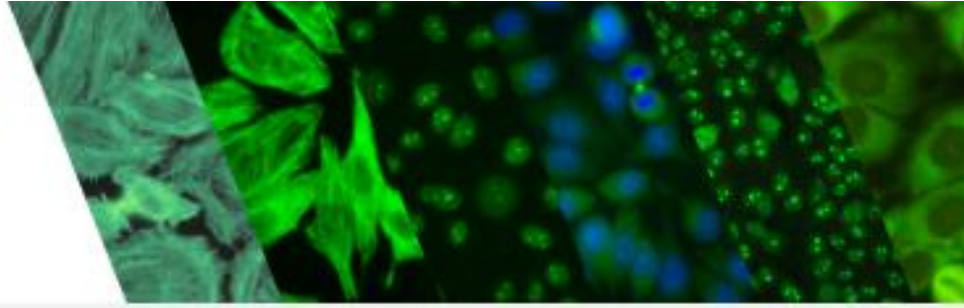
Evidence-Based Guidelines for the Use of Immunologic Tests: Antinuclear Antibody Testing , DANIEL H. SOLOMON,¹ ARTHUR J. KAVANAUGH,² PETER H. SCHUR,¹ AND THE AMERICAN COLLEGE OF RHEUMATOLOGY AD HOC COMMITTEE ON IMMUNOLOGIC TESTING GUIDELINES , Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research) Vol. 47, No. 4, August 15, 2002, pp 434-444

Indirekt immunfloresan (IIF)



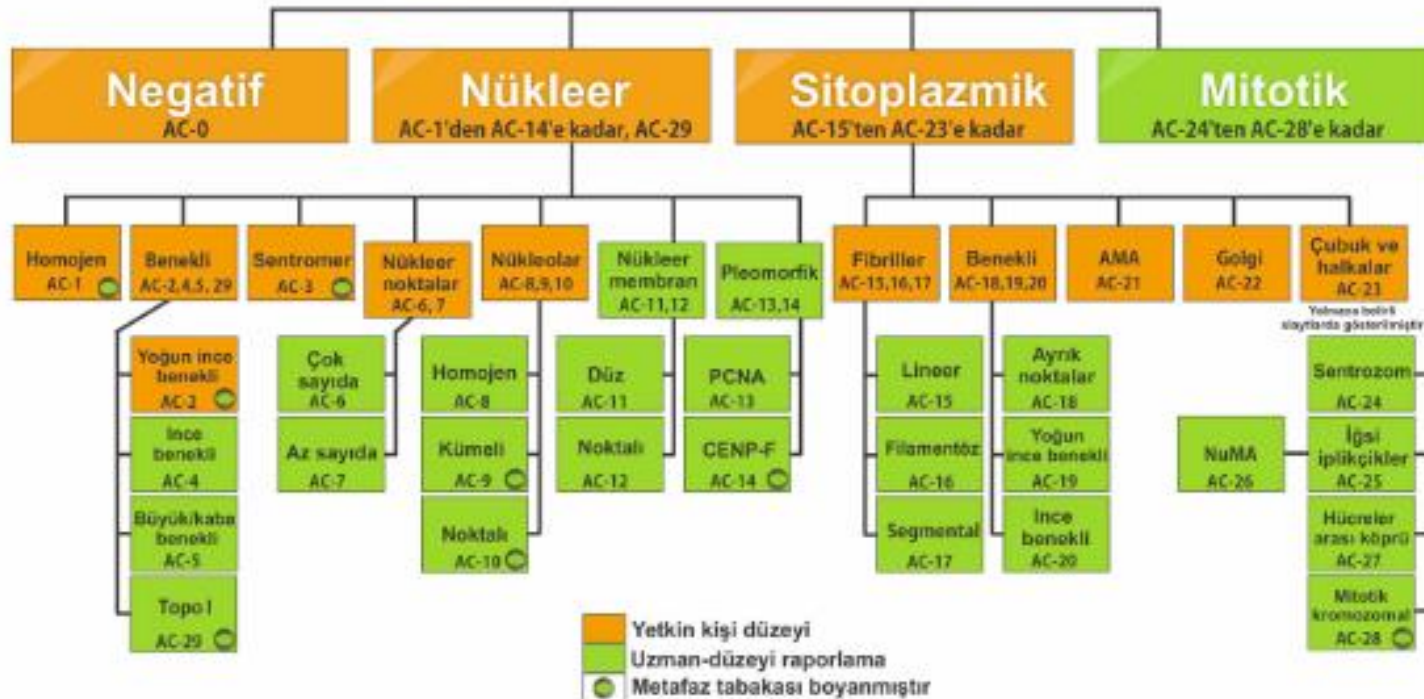
Nature Reviews | Rheumatology

David S. Pisetsky, *Nature Reviews Rheumatology* volume13, pages495–502 (2017)



Adlandırma ve sınıflandırma şeması

HEp-2 hücre paternleri





ANA sonuç raporlanması

- Hangi çalışma yöntemi kullanılmış? (IIF, katı faz yöntemler, ELISA...)
- Hangi substrat hücre kullanılmış?
- Hangi titrede pozitif?
- Laboratuvarın belirlediği sınır değeri nedir?
- Boyanma örneği nedir?
- Açıklama ve öneri bölümü

Sitoplazmik ve mitotik paternlerin yorumlanması

- Jan Damoiseaux ve ark, International consensus on ANA patterns (ICAP): the bumpy road towards a consensus on reporting ANA results, Autoimmun Highlights (2016) 7:1
- Otoantikorların Laboratuvar Tanısı Rehberi, KLİMUD

RAPOR ÖRNEĞİ

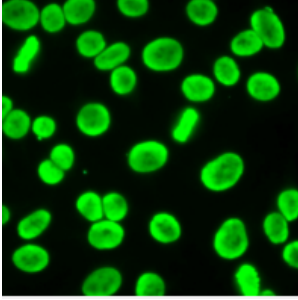
| | |
|----------------------|---|
| Sonuç | ANA: Pozitif (+++) Patern: Sentromer Titre: $\geq 1/1000$ - $< 1/3200$ |
| Çalışma yöntemi | IIF |
| Çalışılan hücre/doku | HEp-2 |
| Referans değeri | $< 1/100$ titre - Negatif |
| Açıklama/öneri | Anti-sentromer antikoruna benzeri boyanma tespit edilmiştir. Anti-ANA/ENA immüno blot ya da anti-CENP B ELISA testi yapılması önerilir. |

RAPOR ÖRNEĞİ

| | |
|----------------------|--|
| Sonuç | ANA: Negatif * * : Sitoplazmada benekli paternde boyanma izlenmiştir. Titre: $\geq 1/1000$ - $< 1/3200$ |
| Çalışma yöntemi | IIF |
| Çalışılan hücre/doku | HEp-2 |
| Referans değeri | $< 1/100$ titre - Negatif |
| Açıklama/öneri | Sitoplazmada anti-Jo-1 antikoruna uyumlu boyanma gözlenmiştir. Miyozit antikorları (Jo-1, SRP, PL-7, PL-12, EJ ve OJ) yönünden araştırılması uygundur. |

Nükleer paternler

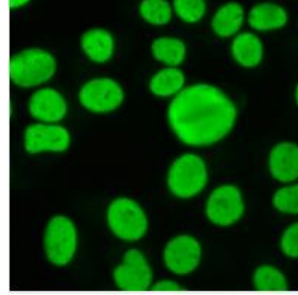
Homojen



dsDNA, histon,
nükleozom

SLE, İlaça bağlı lupus,
RA,
JIA, Scl

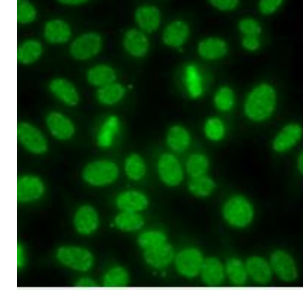
İnce benekli



SS-A/Ro,SS-B/La,
Mi-2,TIF1, Ku

SS, Scl, SLE
Miyozitler, Overlap
sendromu

Yoğun ince benekli

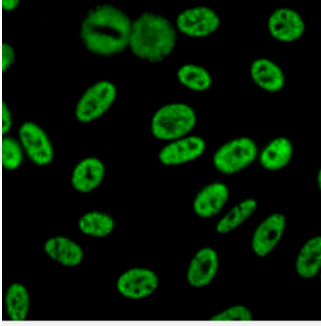


DFS70/LEDGF

Atopik dermatit , göz
hastalıkları, Alopesia areata,
Bazı kanserler, Sistit, Nadiren
SjS, SSc, SLE, Astım

Nükleer paternler

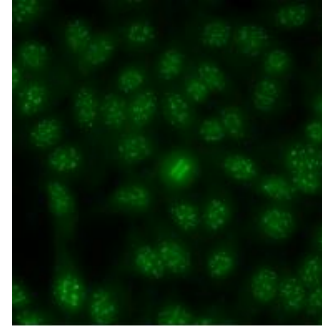
Kaba benekli



U1-nRNP, Sm
RNA polimeraz-3

SLE, MCTD, Scl,
Polimiyozit, Raynaud
sendromu

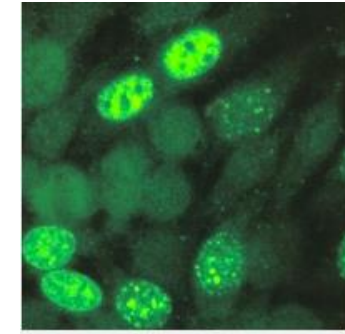
Sentromer



CENP-B, A, C, D

CREST sendromu,
Sınırlı kutanöz Scl,
PBS, Raynaud, SLE

PCNA

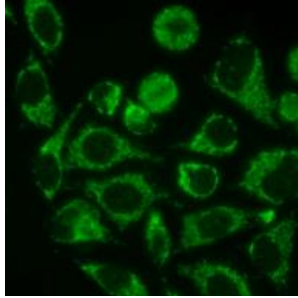


Prolifere olan hücre nükleer
antijen

SLE, lenfoproliferatif hastalık,
SS

Sitoplazmik paternler

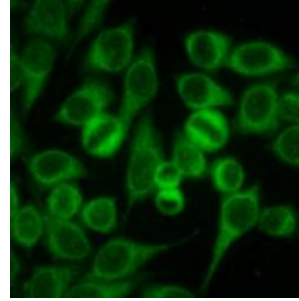
Retiküler
(AMA benzeri)



Antimitokondrial
antikorlar

PBS, skleroderma
ilaca bağlı hepatit
ilaca bağlı lupus

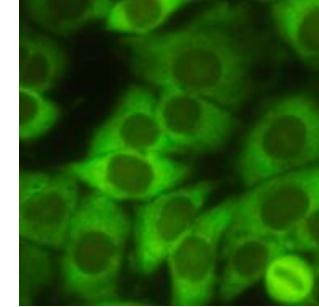
Benekli
(Anti-Jo1 benzeri)



Jo-1

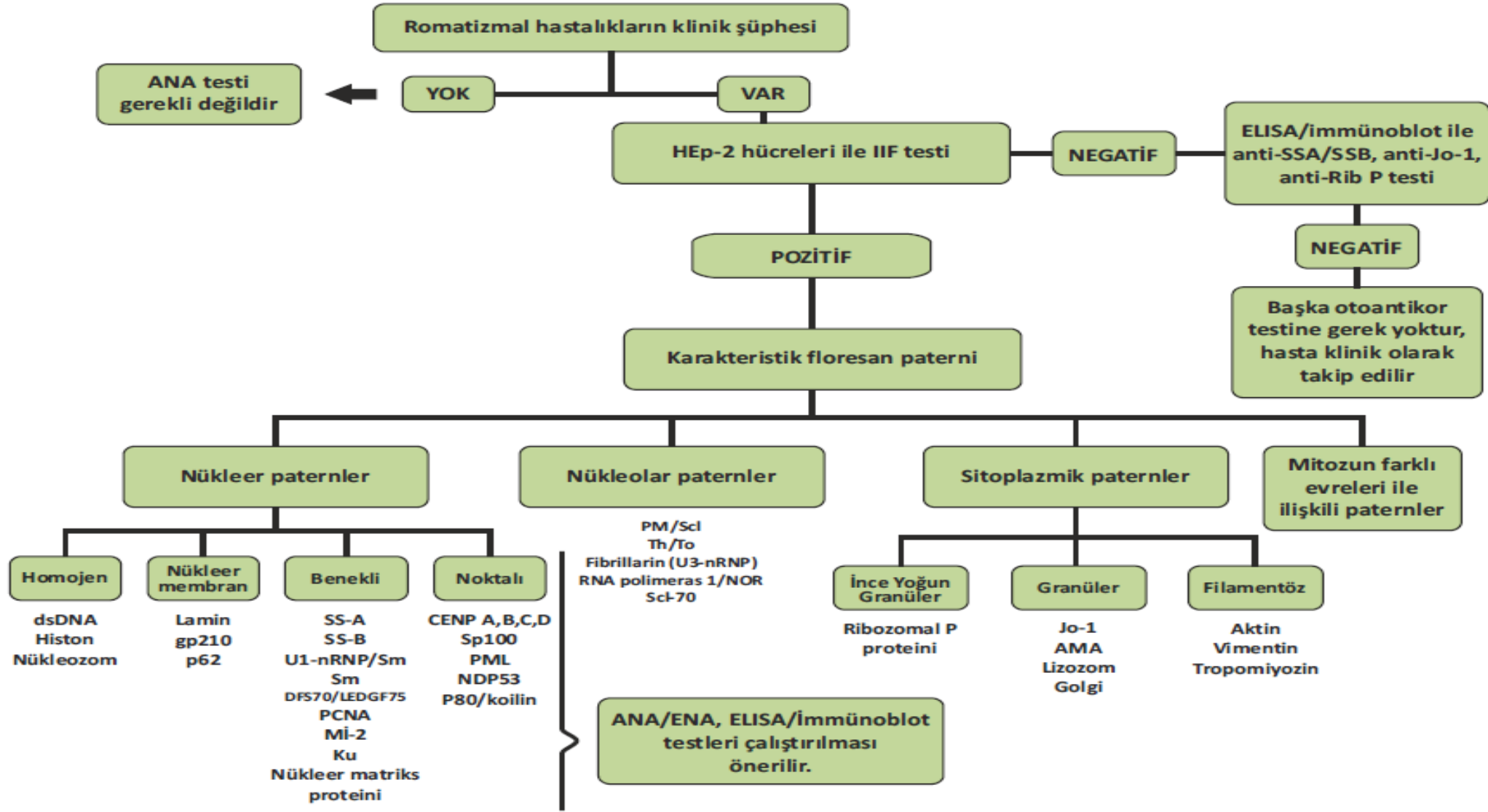
PM/DM
Antisentetaz sendromu
skleroderma

Yoğun ince benekli
(Anti-ribozomal P benzeri)



Ribozomal-P

SLE
Antisentetaz sendromu
PM/DM



Şekil 6.1. ANA varlığını belirlemede kullanılan algoritma.

Anti-Nükleer Antikorlar (ANA)

- Sağlıklı çocuklarda %8;
- Yetişkinlerde %5-15;
- ≥ 60 yaş %25;
- Kadında daha sık
- Otoimmün hast. olanların 1. derece yakınlarında daha sık
- Kollajen doku hastalıklarında tipik bir laboratuvar bulgusudur. Ancak bütün otoimmün hastalıklarda saptanabilir.
- İlaçlar ANA pozitifliği yapabilir.

| ANA tanıda çok yararlı | ANA pozitiflik (%) |
|---|---------------------------|
| Sistemik lupus eritematozus | 90-95 |
| Sistemik skleroz | 85-95 |
| Primer biliyer siroz | 50-80 |
| ANA tanıda belli ölçüde yararlı | |
| Polimiyozit / dermatomyozit | 30-70 |
| Sjögren sendromu | 50-70 |
| ANA kritik tanı kriterleri arasında | |
| İlaça bağlı lupus | 70-90 |
| Miks bağ dokusu hastalığı | 90-100 |
| Otoimmün hepatit | 40-80 |
| ANA hastalık izlemi ve prognozda çok yararlı | |
| Juvenil kronik artrit | 50-60 |
| Raynaud fenomeni | 20-40 |
| ANA'nın hastalık tanısı, izlemi veya prognozda rolü yok veya henüz kanıtlanmamış | |
| Romatoid artrit | 15-30 |
| Multipl skleroz | 20-30 |
| Otoimmün tiroid hastalıkları | 10-20 |
| Enfeksiyon hastalıkları | 20-40 |
| İdiyopatik trombositopenik purpura | 10-30 |
| Fibromiyalji | 20-30 |
| Kanser ve paraneoplastik sendromlar | 20-50 |
| Sağlıklı bireyler | |
| 1/40 | 20-30 |
| 1/80 | 10 |
| 1/160 | 5 |
| 1/320 | 2 |

ANA altgruplarının Tanı ve Hastalık Özellikleri ile İlişkisi

| Hastalık | Antikor | Sıklık (%) | Hastalık Özellikleri |
|-------------------------|------------|------------|--|
| SLE | Anti-dsDNA | 70 | Lupus nefriti |
| | Anti-Sm | 10-25 | Vaskülit, SSS lupusu |
| | Anti-U1RNP | 30 | Raynaud f., artrit, miyozit, MKDH |
| | Anti-Ro | 40 | Fotosensitif raş, SCLE, Yenidoğan lupusu, Sek. SjS |
| | Anti-La | 15 | Anti-Ro ile aynı |
| | Anti-rRNP | 15 | SSS lupusu, psikoz, depresyon |
| Sjögren Sendromu | Anti-Ro | 60-90 | Ekstraglandüler hst, vaskülit, lenfoma |
| | Anti-La | 35-85 | Anti-Ro ile aynı |

ANA ve Hastalık Özellikleri ile İlişkisi-2

| Hastalık | Antikor | Sıklık (%) | Hastalık Özellikleri |
|----------------------------|-----------------------|------------|---|
| Sistemik skleroz | Anti-sentromer | 30 | Sınırlı kütanöz hst. telenjiektazi, Mikro/makrovask.hst |
| | Anti-ThRNP | 4 | Sınırlı kütanöz SSc |
| | Anti-topoizomerez-1 | 25 | Diffüz kütanöz SSC, İnterstisyel AC hst. |
| | Anti-RNA-polimerazlar | 20 | Diffüz kütanöz SSc, Renal hst. |
| | Anti-U3RNP | 5 | Diffüz kütanöz SSc, Pulm. HT |
| | Anti-PM-Scl | 5 | SSc/polimiyozit overlap |
| | Anti-Ku | 2 | “ |
| Dermato/Polimiyozit | Anti-Jo-1 | 30 | antisentetaz sendrom |
| | Anti-SRP | 4 | Ciddi miyozit |
| | Anti-Mi2 | 10 | Dermatomyozit |

SLE ve ANA

SLE'de IIF ANA testinin sensitivitesi %95-100, spesifitesi %20

SLICC[†] Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus

Requirements: ≥ 4 criteria (at least 1 clinical and 1 laboratory criteria)
OR biopsy-proven lupus nephritis with positive ANA or Anti-DNA

Clinical Criteria

1. Acute Cutaneous Lupus*
2. Chronic Cutaneous Lupus*
3. Oral or nasal ulcers *
4. Non-scarring alopecia
5. Arthritis *
6. Serositis *
7. Renal *
8. Neurologic *
9. Hemolytic anemia
10. Leukopenia *
11. Thrombocy

Immunologic Criteria

1. ANA
2. Anti-DNA
3. Anti-Sm
4. Antiphospholipid Ab *
5. Low complement (C3, C4, CH50)
6. Direct Coombs' test (do not count in the presence of hemolytic anemia)

[†]SLICC: Systemic Lup

* See notes for criteria details

Petri M, et al. Arthritis and Rheumatism. Aug 2012

New ACR and EULAR criteria for classification of SLE

All patients classified as having systemic lupus erythematosus must have a serum titer of antinuclear antibody of at least 1:80 on human epithelial-2-positive cells or an equivalent positive test. In addition, a patient must tally at least 10 points from these criteria. A criterion is not counted if it has a more likely explanation than SLE. Occurrence of the criterion only once is sufficient to tally the relevant points, and the time when a patient is positive for one criterion need not overlap with the time when the patient is positive for other criteria. SLE classification requires points from at least one clinical domain, and if a patient is positive for more than one criterion in a domain only the criterion with the highest point value counts:

| Clinical domains | Points | Immunologic domains | Points |
|---|--------|--|--------|
| Constitutional domain | | Antiphospholipid antibody domain | |
| Fever | 2 | Anticardiolipin IgG >40 GPL or anti-β2GP1 IgG >40 units or lupus anticoagulant | 2 |
| Cutaneous domain | | Complement proteins domain | |
| Nonscarring alopecia | 2 | Low C3 or low C4 | 3 |
| Oral ulcers | 2 | Low C3 and low C4 | 4 |
| Subacute cutaneous or discoid lupus | 4 | Highly specific antibodies domain | |
| Acute cutaneous lupus | 6 | Anti-dsDNA antibody | 6 |
| Arthritis domain | | Anti-Smith antibody | 6 |
| Synovitis in at least two joints or tenderness in at least two joints, and at least 30 min of morning stiffness | 6 | | |
| Neurologic domain | | | |
| Delirium | 2 | | |
| Psychosis | 3 | | |
| Seizure | 5 | | |
| Serositis domain | | | |
| Pleural or pericardial effusion | 5 | | |
| Acute pericarditis | 6 | | |
| Hematologic domain | | | |
| Leukopenia | 3 | | |
| Thrombocytopenia | 4 | | |
| Autoimmune hemolysis | 4 | | |
| Renal domain | | | |
| Proteinuria >0.5g/24 hr | 4 | | |
| Class II or V lupus nephritis | 8 | | |
| Class III or IV lupus nephritis | 10 | | |

MDedge News

Skleroderma ve ANA

Sklerodermada IIF ANA testinin sensitivitesi %85, spesifitesi %54

| Antikor | Sıklık (%) | Rolü |
|--------------------------|------------|---|
| Anti CENP-B | 30 | Limitli Scl, izole PAH, kötü bağırsak hastalığı |
| Anti- Scl-70 | 25 | Difüz Scl, renal kriz, İAH |
| Anti RNA polimeraz I,III | 20 | Renal kriz, difüz Scl,malignensi |
| Anti PM-Scl | 5 | Ciddi hastalık, miyozit, renal kriz |
| Anti fibrillarin | 5 | Miyozit |
| Anti TH/To | 3 | Limitli Scl, PAH |
| Anti U11/U12 | 2 | AC fibrozis |
| Anti eIF2B | 1 | AC fibrozis, difüz Scl, overlap |

DFS70 Paterni (LEDGF)

- DFS70 (dense fine speckles 70) antijeni
- İlk interstisyel sistit hastalarında
- İzole anti-DFS-70 antikor pozitifliği ANA ilişkili romatizmal hastalıkların %1'in altındadır.

İzole anti-DFS70/LEDGF pozitifliği genellikle sistemik romatizmal hastalık tanısından uzaklaştırır.

Simon Gundin et al., Autoimmun Highlights (2016) 7:10
Mariz HA et al. Arthritis Rheum 2011;63:191-200
Karsten Conrad et al. Clin Rev Allerg Immunol (2017) 52:202-216

ANA pozitif olup romatizmal hastalığı olmayanlarda ne olabilir?

- Henüz tanısı konulmamış otoimmün romatizmal hastalık
- ANA+ olan diğer otoimmün hastalıklar: otoimmün tiroid, karaciğer hastalıkları vb
- Geçici ANA+: postviral enfeksiyonlar
- Laboratuvar faktörler: yanlış örnek, yanlış yöntem, yanlış rapor vb.
- Otoimmün hastalığı olmayan bireylerde ANA+ (sağlıklı kişiler vb.)
- SLE düşünülen kişilerde ANA, kesin karar verilene kadar birkaç defa değerlendirilmelidir.

ANA Testinde önemli noktalar

- Otoimmün hastalığın klinik bulguları gelişmeden yıllar önce ANA pozitifliği olabilir.
- Titre ve boyanma tipi çok önemlidir, titre arttıkça altta yatan bir patoloji ihtimali artar
- Sağlıklı insanlarda %10, BDH olguların akrabalarında ileri yaş kadınlarda, sülfasalazin, INH gibi ilaçları alanlarda özellikle düşük titrede ANA pozitifliği olabilir.
- Sağlıklı birinde yüksek titrede ANA pozitifliği saptandığında herhangi bir hastalık tanısı konulmasa da uzun süre izlenmesi gerekebilir. Bu olgularda SLE veya skleroderma gelişme riski yüksektir.
- Semptom ve bulgu yokluğunda düşük titredeki pozitiflikler dikkate alınmayabilir.

ANA

Kimden İsteyelim ?

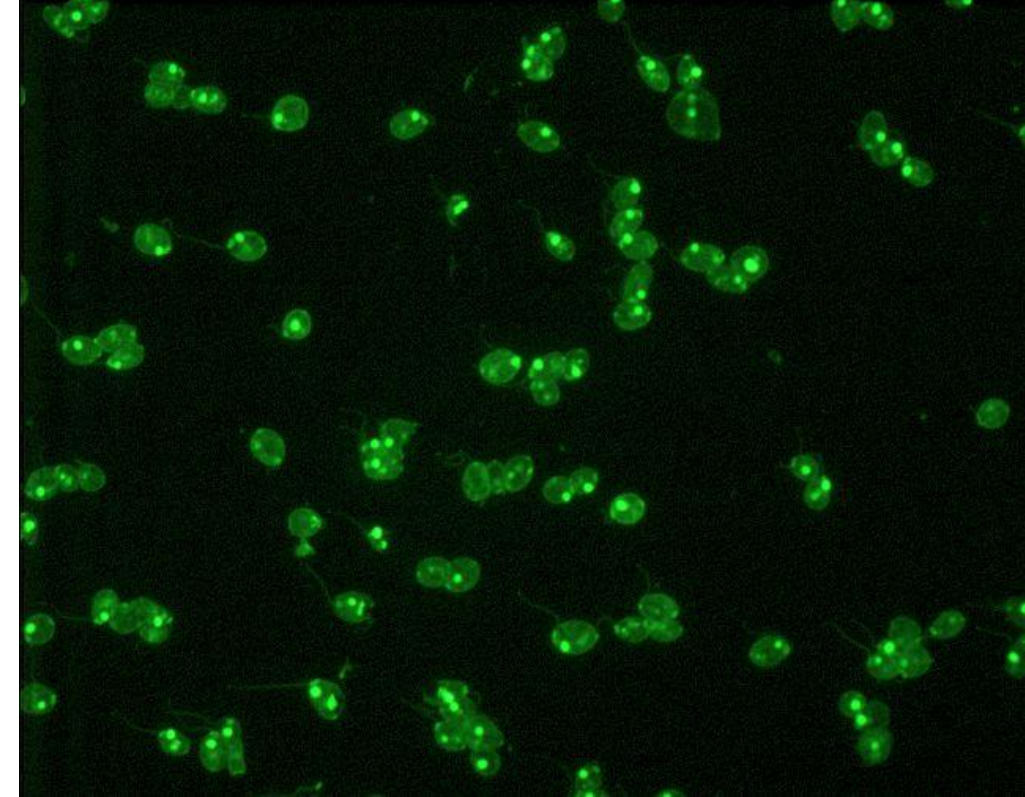
- Plevral Effüzyon
- Perikardit
- Artritle gelen ayrımlaşmamış hasta
- İntertisyel Akciğer Hastalığı
- Raynaud Sendromu vb...
- Kuru göz, sklerit, episklerit
- Mononörit

Kimden İstemeyelim ?

- Erozyonu belirgin hasta
- Bel ağrısı olan hasta
- Üveiti olan erişkin hasta
- Hastalık aktivitesi için

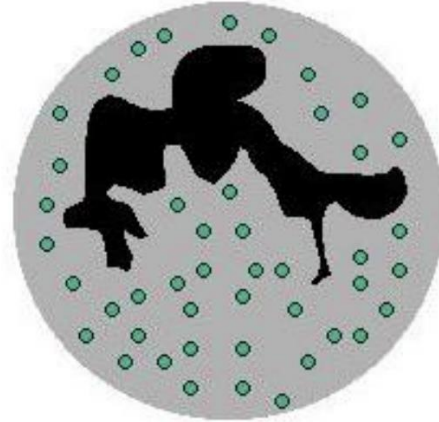
Anti-ds DNA

- ANA pozitif ve SLE kliniği olan hastada önce Crithidia luciliae ile tarama, sonra ELISA ile titre tayini uygun olur.
- SLE için ACR kriteri, ancak negatifse SLE tanısı dışlanmaz.
- Sağlıklıda nadir ($\leq 0.1\%$), SLE için risk faktörü
- SLE'de aktivite, ciddiyet ve böbrek tutulumu için anlamlı; titre ile korele
- Lupus nefriti patogenezinde yeri var.
- Tedavinin takibinde seri ölçümlerin yeri var.
- **KİMLERE İSTENMELİ**
 - SLE şüphesi uyandıran klinik belirti ve bulguların varlığında ve IIF yöntemi ile pozitif ANA sonucu alınması durumunda

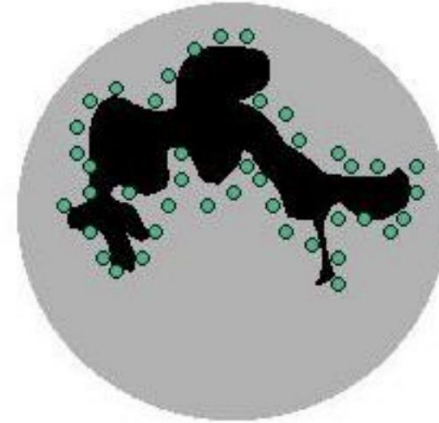


Anti-Nötrofil Sitoplazmik Antikorlar (ANCA)

- Nötrofil ve monositlerin sitoplazmik granüllerinde bulunan antijenlere karşı oluşmuş otoantikorlardır.
- ANCA= Anti- Nötrofil Sitoplazmik Otoantikorlar



C-ANCA



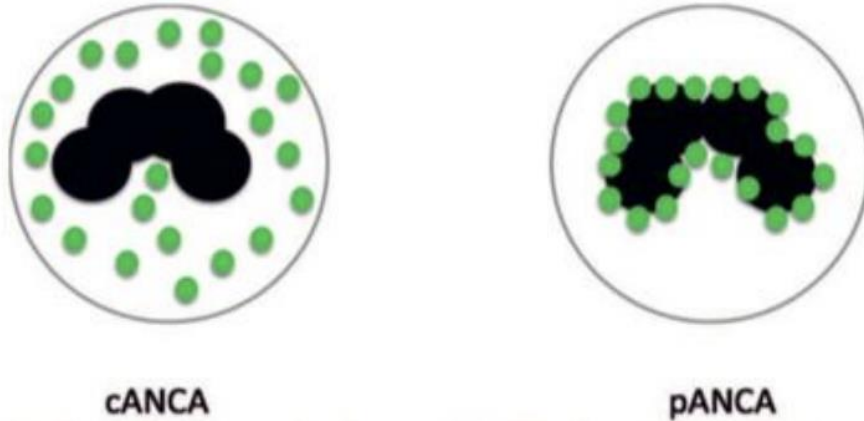
P-ANCA

...Sitoplazmada granüller.....Nükleus çevresinde granüller...

- c-ANCA pozitif reaksiyonun;
 - %90'ından serin proteaz (PR3) sorumlu
 - Nadir olarak MPO,BPI (bakterisidal permeabilite artırıcı protein)
- p-ANCA pozitif reaksiyonun;
 - %10'u miyeloperoksidaz (MPO)
 - Diğerleri laktoferrin,elastaz, BPI,katepsin G, lizozim, alfa enolaz sorumlu

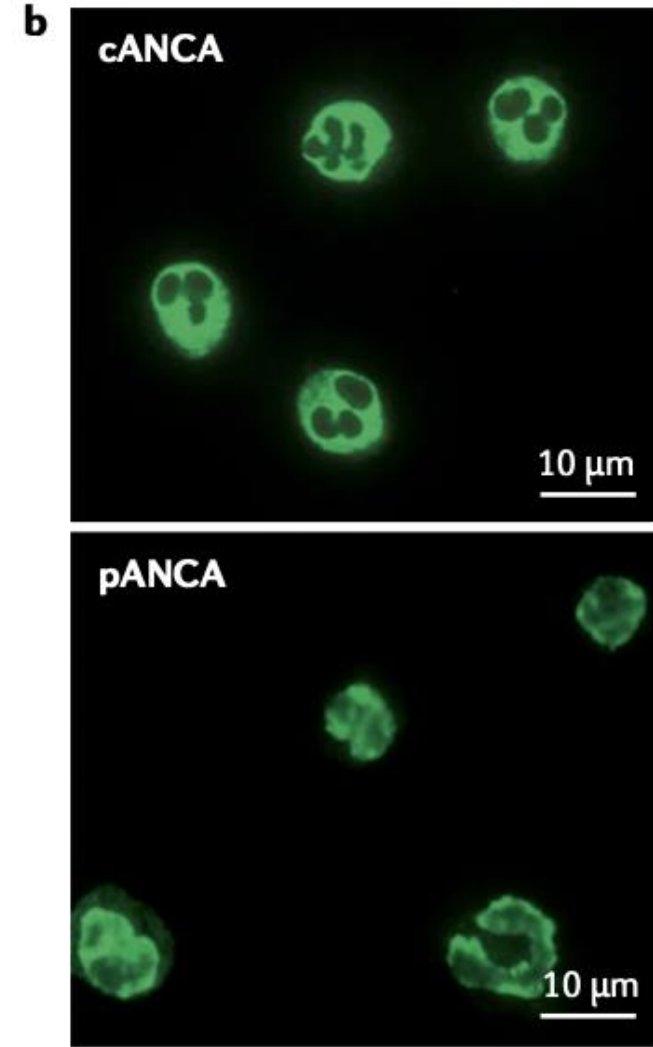
IIF testi ile ANCA değerlendirmesi

- ANCA değerlendirmesinde ilk basamak IIF yöntemi ile tarama yapmaktır, İlk değerlendirilmesi gereken substrat etanolle fikse edilmiş granlositlerdir.
 - Çünkü perinükleer ve sitoplazmik ANCA ayrımı sadece bu substratta yapılabilir. Ardından ELISA yöntemiyle PR3-ANCA veya MPO-ANCA'ların spesifik olarak tanımlanmasıdır.
- Bu substrattaki çalışma sonrasında esas olarak iki farklı patern saptanır:
- **c-ANCA:** Sitoplazmik tipte, nötrofil sitoplazmasına yayılmış dağınık granüler bir tutulum ve floresan boyanmada santral intralobüler kuvvetlenme vardır. Hücre ekirdeği tutulmamıştır.
- **p-ANCA:** Perinükleer tipte ise, hücre çekirdeği çevresini kurdele tarzında saran ve nükleer bölgeye uzanan düzgün bir floresan gözlenir



şekil 27. Etanolle fikse edilmiş granülositlerde görülen ANCA pozitiflikleri.

- Etanol ile fikse edilmiş substratta perinükleer-sitoplazmik ayrımı yapıldıktan sonra formalinle fikse edilmiş granülosit substratı değerlendirilir. Formalin, granüllerin göçüne izin vermeyip sitoplazmada oldukları yere sabitlediği için floresan boyanma sadece sitoplazmada dağınık şekildedir.
- Ancak bazı ANCA tiplerinin formaline duyarlı olması nedeniyle formalinle fikse edilen granülositlerde saptanmadığı (ANCA pozitif-formaline duyarlı) belirtilmiştir; örn., BPI, laktoferrin, katepsin G gibi)



ANCA

- İlk basamak IFA ile ANCA tespiti
- Eğer ANCA pozitifse ELISA ile doğrulama
- İlk olarak etanol ile fiksasyon>> p-ANCA c- ANCA ayrımı
- Sonrasında formalin ile fiksasyon
- Formalin dirençli ise pr3/mpo

- ANCA'nın IIF yöntemiyle değerlendirilmesinde dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta hasta serumunda eşlik edebilecek ANA varlığıdır.
- ANCA çalışmasındaki dilüsyonun 1/10'dur. Bu dilüsyonda özellikle pANCA'yı maskeleyebilecek ANA pozitifliği değerlendirmelerde sorun yaratabilmektedir.
- Bu nedenle ANA pozitifliği görülen serum örneklerinde IIF yerine MPO-ANCA ve PR3-ANCA ELISA çalışılması önerilmektedir.

Tablo 12. cANCA ve pANCA'nın hedef antijenleri, ilişkili olduğu hastalıklar ve seropozitiflik oranları

| IIF paterni | Antijenler | Hastalıklar | Sero-pozitiflik (%) |
|-------------|-------------|---|---------------------|
| cANCA | PR3 | Polianjiitisi granülomatozis (GPA, WG) | 80-90 |
| | | Mikroskobik polianjiitis | 20-40 |
| | | Primer "pauciimmune" kresent glomerülonerit | 20-40 |
| | | Eozinofilik polianjiitisi granülomatozis (EGPA, Churg-Strauss sendromu) | 35 |
| pANCA | MPO | Mikroskobik polianjiitis | 42-70 |
| | | Primer "pauciimmune" kresent glomerülonerit | 50 |
| | | Eozinofilik polianjiitisi granülomatozis (EGPA, Churg-Strauss sendromu) | 18-60 |
| | Katalaz | Ülseratif kolit | 50-70 |
| | Alfa enolaz | Crohn hastalığı | 10-30 |
| | Aktin | Aktif romatoid artrit | 30 |
| | Laktoferrin | İlaca bağlı vaskülit | ? |
| | Elastaz | Primer sklerozan kolanjit | 87 |
| | Katepsin G | Tip 1 otoimmün hepatit | 70-90 |
| | Defensin | Primer biliyer siroz | 30 |
| Atipik ANCA | BPI | İlaca bağlı vaskülit | |
| | MPO | İnflamatuvar bağırsak hastalıkları | |
| | Katepsin G | Romatoid artrit | |

ANCA Pozitifliği Yapan Diğer Durumlar

- *Bağ Doku Hastalıkları*

SLE, Romatoid Artrit, Felty

- *Enfeksiyonlar*

- Subakut Bakt. Endokardit, TBC,HIV

- *İnflamatuvar Barsak Hastalıkları*

- *Otoimmün Hepatit*

- *Sklerozan Kolanjit*

- *İlaç ilişkili*

- Antitiroid ilaçlar, hidralazin, propiltiyourasil, penisilamin

2017 yılı uzlaşı raporuna göre ANCA testleri ile ilişkili olarak güncel bilgiler:

- Test istemi yapılırken klinik bulgulara dayanan bir strateji izlenmelidir.
- İlk tarama yöntemi olarak yüksek kaliteli PR3-ANCA ve MPO-ANCA için antijene özgül testler kullanılmalıdır.
- PR3-ANCA ve MPO-ANCA'nın her ikisi için de sonuç negatif ise ve halen küçük damar vaskülitleri için güçlü klinik şüphe varsa; diğەر immünolojik testlerin ve/veya IIF'in kullanılması ya da deneyimli bir laboratuvara yönlendirilmesi önerilir.
- Negatif PR3-ANCA ve MPO-ANCA sonucu durumunda ANCA ilişkili vaskülit tanısı dışlanamaz.
- Pozitif PR3-ANCA ve MPO-ANCA sonucu sadece ANCA ilişkili vaskülit tanısında yardımcıdır, tek başına tanısal değildir.
- Antikor seviyelerinin dikkate alınması klinik yorumlamayı geliştirir.
- Bu yenilenmiş uzlaşı nerileri özellikle GPA ve MPA gibi vaskülitlerin tanısında geçerlidir, fakat IBH, OIH ve ilaç ilişkili otoimmünite tanısı için yardımcı test olarak geçerli değildir.

ANCA

Kimden İsteyelim ?

- Glomerulonefrit(özellikle hızlı ilerleyen)
- Pulmoner hemoraji (pulmonorenal sendromda)
- Multiple pulmoner nodüller
- Mononoritis multipleks
- Açıklanamayan konstitüsyonel bulgular
- Artritsiz İnterstisyel Akciğer Hastalığı
- Nodüler sklerit-episklerit
- Retroorbital kitle
- Uzun süren sinüzit,otit, üst solunum yollarında dekstratif hastalık
- Subglottik trakeal stenoz
- Vaskülitik döküntü

Kimden İstemeyelim ?

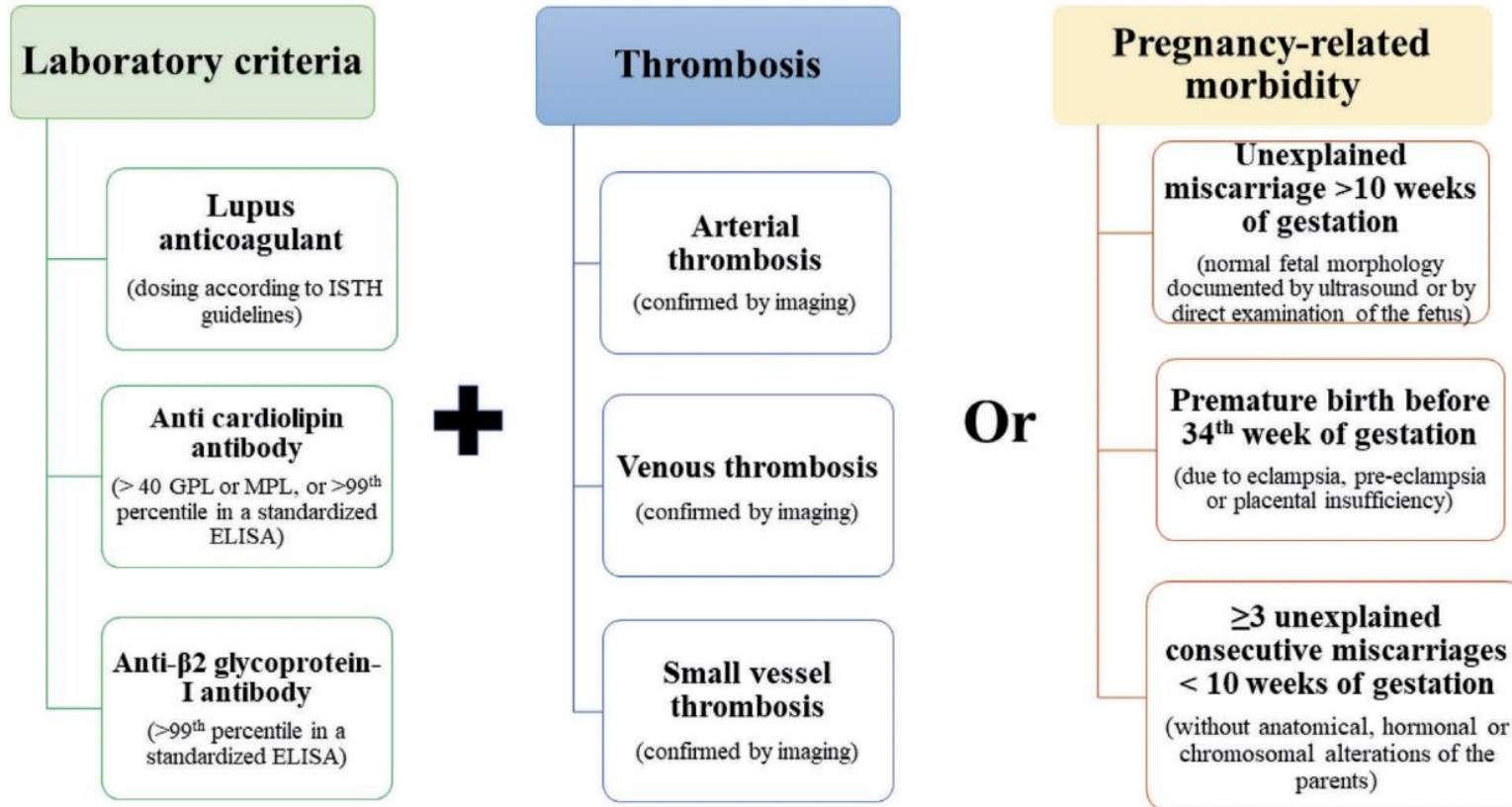
- Sedimantasyon yüksekliği araştırma
- Artritli hastada ilk test olarak

Anti-Fosfolipit Antikorları

- Negatif yüklü/nötr bazı fosfolipidler ve fosfolipid bağlayan bazı proteinlere (β -2GP1, annexin V, protrombin, protein S ve C) karşı gelişen antikorlar
- Sağlıklılarda %2-5; AKA infeksiyonlarda bulunabilir.
- Primer veya başta lupus olmak üzere diğer hastalıklarla (enfeksiyon, malignite, otoimmün hastalıklar) birlikte sekonder olabilir
- Rutinde AKA (IgG ve M), LA ve anti- β 2GP1 bakılır. Birbirlerinden bağımsızdırlar.

Anti-Fosfolipit Antikorlar

- AKA ve anti- β 2GP1 seviyesi ELİSA ile,
- LA seviyeleri ise aPTT uzaması ile tayin edilir (LA fosfolipidlere bağlı koagölasyon testlerini bozarak uzamasına yol açar).
- Farklı antikorlar olmasına rağmen hastaların % 45-70'inde birlikte bulunurlar.
- SLE'li hastalarda LA yaklaşık % 34 ve AKA % 44 oranında tespit edilir.



TEŞEKKÜRLER....